Basel 1951

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel

Über die Angriffspunkte des Coffeins am Atmungszentrum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität
BASEL

vorgelegt von
JON F. KEITH
von Timisoara (Rumänien)

STANFORD MEDICAL LIBRARY

1951
Basel

Die Arbeit wurde ausgeführt auf Anregung und unter Leitung von
Herrn Prof. Dr. Karl Bucher

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Herrn Prof. Dr. K. Bucher

Tag der Promotion: 16. Mai 1951

Erschienen in Archives internationales de Pharmacodynamie
et de Thérapie 3, 283, 1951

AUS DER PHARMAKOLOGISCHEN ANSTALT DER UNIVERSITÄT BASEL
DIR.: PROF. DR. K. BUCHER

UEBER DIE ANGRIFFSPUNKTE DES COFFEINS AM ATMUNGSZENTRUM

(With Summary)

VON

JON KEITH (1)

(Eingegangen am 19-5-1951).

In der grossen Gruppe der zentralen Erregungsmittel ist die gegenseitige Differenzierung der einzelnen Stoffe bisher eigentlich nicht gerade weit getrieben worden. Man weiss zwar etwa — vorwiegend auf Grund klinischer Erfahrung — dass z.B. Amphetamin in erster Linie auf Rindenfunktionen, Atropin auf Stammhirnfunktionen, Strychnin auf Rückenmarksfunktionen erregend wirkt usw. Hingegen sind experimentelle Untersuchungen mit dem ausschliesslichen Ziel, die Angriffspunkte des einen oder anderen Mittels genauer zu lokalisieren, bisher nur selten durchgeführt worden.

Für die experimentellen Untersuchungen wurde in der Mehrzahl der Fälle so vorgegangen, dass gewisse Hirnpartien oder Hirnfunktionen chirurgisch oder durch Pharmaka ausgeschaltet wurden und dass dann geprüft wurde, ob die Wirkung des in Frage stehenden Stoffes dadurch beeinträchtigt würde. Zur Beurteilung wurde meistens die krampferregende Wirkungskomponente verwendet, weniger oft die blutdrucksteigernde und nur sehr selten die atmungserregende (Lit. 2; 6; 13; 8; 15; 14; 7; u.a.m.). Neben diesen als „indirekt„ zu bezeichnenden Methoden wurde gelegentlich auch versucht, die Angriffspunkte direkt nachzuweisen, bspw. durch lokalisiertes Aufbringen des zu untersuchenden Erregungsmittels auf verschiedene Hirnpartien. In dieser Weise hat z.B. COMROE (4) durch multiple Mikroinjektionen in den Hirnstamm den primären Angriffspunkt der CO_2 zu erfassen versucht.

(1) Mit Unterstützung der Roche-Studien-Stiftung in Basel.

Da mit Coffein u.W. bisher nie irgendwelche Lokalisationsversuche durchgeführt wurden, haben wir für unsere eigenen Versuche zunächst gerade diesen Stoff gewählt. Dabei kam es uns vor allem darauf an, die *Angriffspunkte für dessen Atmungswirkung* kennen zu lernen und zwar — und dies ist eine weitere Praezisierung unserer Fragestellung — nur diejenigen, welche im Hirnstamm zwischen den hinteren Vierhügeln und dem Obex gelegen sein mögen. Nach unseren heutigen Vorstellungen über die Atmungsregulation sind ja die wichtigsten Substrate der zentralen Atmungssteuerung in diesem Bereich zu suchen. Als Methode haben wir eine direkte gewählt. Sie ist — mit einigen Abaenderungen — dieselbe, die von FISCHLEWITZ und BUCHER (5) für die Lokalisation der Angriffspunkte des Morphins entwickelt wurde.

METHODE

An ca 2,5-3 kg. schweren Kaninchen in Urethannarkose (1,4 g/kg s.c.) wurde, nach der an unserem Institut üblichen Methode (MEIER und BUCHER, 10) der Schädel eröffnet, der Kleinhirnwurm entfernt und damit die Rautengrube von den hinteren Vierhügeln bis unterhalb des Obex freigelegt. Die Tiere atmeten durch eine Trachealkanüle. Die Registrierung der Atmung erfolgte in Form des Pneumogramms.

Das Prinzip unserer Untersuchung bestand darin, zunächst den Hirnstamm in querer Richtung links halbseitig zu durchtrennen. Die Lage der Schnitte wurde von Tier zu Tier systematisch geändert. Je nach Schnittlage kann — wie schon MARCKWALD (9) und später andere Autoren (vide Lit. 11) gezeigt haben — eine Aenderung der Atmung resultieren. Nach der Durchschneidung wurde zunächst gewartet, bis die Tiere — nach ihrer Atmungstätigkeit zu schliessen — sich vom Eingriff erholt hatten. Die dann bestehnde Atmung — die wie gesagt je nach der Lage des Schnittes von der ursprünglichen Normalatmung stark verschieden sein mochte — wurde hinsichtlich Atmungsfrequenz und Atemzugstiefe charakterisiert. Die so erhaltenen Grössen wurden als Vergleichswerte für das Nachfolgende betrachtet.

Im Gegensatz zu den sub Lit. 5 zitierten Untersuchungen wurde in allen Fällen nur die halbseitige Durchschneidung durchgeführt, da bei vollständiger Durchtrennung im Gebiet des Calamus scriptorius die Atmung meist aufhörte. Man hätte also gerade in diesem wichtigen Gebiet nicht untersuchen können. Da anzunehmen ist, dass die in Frage stehenden Substrate symmetrisch gelegen sind, dürfte der Wert der Methode dadurch nicht beeinträchtigt werden.

Die nächste Phase der Untersuchung bestand nun darin, Coffein in die Schnittwunde hineinzubringen und zwar so, dass die ganze Schnittfläche des caudalen Hirnstammstumpfes (und nur diese) in ihrer ganzen Ausdehnung gleichmässig dem Coffeineinfluss ausgesetzt war. Zu diesem Zwecke wurde ein Filtrierpapier, auf dem vorher Coffein aufgetrocknet worden war, sorgfältig in die Wunde eingeschoben. Das Filtrierpapier hatte jeweils genau die Form und die Ausdehnung des Hirnstammstumpfes. Es enthielt pro cm^2 ca. 65 mg Coffein, in Form des leicht löslichen Coffeino-Natrium-salicylicum. Es wurde darauf geachtet, dass seine Einführung absolut reizlos erfolgte, was an der Atmungstätigkeit leicht beurteilt werden konnte. Die seltenen Fälle, in denen sofort mit dem Einführen irgendwelche Atmungsänderungen auftraten, wurden nicht verwertet.

Man darf sich nun vorstellen, dass das Coffein allmählich in den Hirnstammstumpf hineindiffundiert und an eventuell vorhandenen Angriffspunkten seine Wirkungen entfaltet (für Morphin jedenfalls ist dies experimentell bewiesen worden Lit. 5). Die Coffeinwirkungen werden dabei umso schneller auftreten, je empfindlicher das betreffende Substrat ist und je näher an der Schnittfläche es sich befindet. Wir haben in jedem Falle die Reaktion der Tiere bis 20 Minuten nach dem Einlegen des Coffeins laufend verfolgt. Als Mass für eine eventuell erfolgte Atmungsaenderung wurde der Mittelwert der nach 5, 10, 15 und 20 Minuten vorhandenen Atmungsgrössen genommen und dem Ausgangswert vergleichend gegenübergestellt. Um trotz der, infolge der Lage der Schnittebene eventuell stark verschiedenen Ausgangswerte die Coffeinwirkung über den ganzen Untersuchungsbereich vergleichbar verfolgen zu können, wurden die Aenderungen in Prozenten angegeben. Die Ausgangswerte wurden jeweils mit 100 % gleichgesetzt.

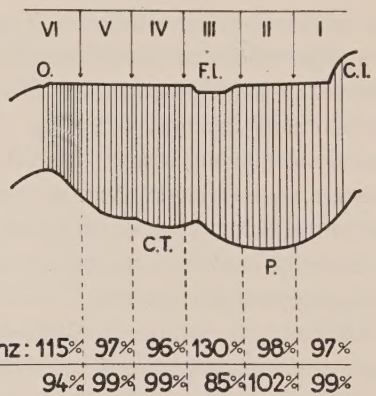
Es ist nun klar, dass die an oder unmittelbar unter der Schnittfläche gelegenen Nervenelemente hohen Coffeinkonzentrationen ausgesetzt sein können. Das Coffein liegt ja als feste, auf dem Filtrierpapier aufgetrocknete Substanz an der Schnittfläche. Daher wäre denkbar, dass gelegentlich schon rein osmotisch, als Folge reiner Salzwirkung, gewisse Effekte auftreten könnten, die dann natürlich als unspezifisch zu betrachten wären. Um diesbezüglich differenzieren zu können, haben wir in einer weiteren Versuchsserie an Stelle von Coffein das Theobromin verwendet (ebenfalls als Theobromino-Natrium-salicylicum). Dieser Stoff dürfte sich hinsichtlich Wasserlöslichkeit, Diffusibilität u.a.m. sehr ähnlich wie Coffein verhalten. Seine zentralerregende Wirkung hingegen ist sehr viel schwächer. Wenn daher an den Stellen, an denen Coffein allenfalls wirksam ist, Theobromin

wirkungslos sein sollte, dann dürfte die Coffeinwirkung daselbst wohl als spezifisch betrachtet werden können.

Ergebnisse

Für die erste Versuchsserie (Coffeinversuche) haben wir zunächst danach getrachtet, an den verschiedenen Tieren die einzelnen Schnitte so anzulegen, dass wir letzten Endes über dem ganzen in Frage stehenden Bereich eine etwa gleichmässige Verteilung haben. Abb. 1 zeigt diese Verteilung an 37 Kaninchen mit insgesamt 53 Schnitten. In jedem einzelnen Falle wurde gemessen, wie Atmungsfrequenz und Atemzugstiefe durch Aufbringen von Coffein änderten (siehe Methode). Dann wurden die einzelnen Versuche gruppiert, entsprechend den in Abb. 1 angezeichneten, willkürlich gewählten 6 Sektoren (I-VI). Die Länge eines Sektors in cranio-caudaler Richtung beträgt ca. 3 mm. Die

Abb. 1



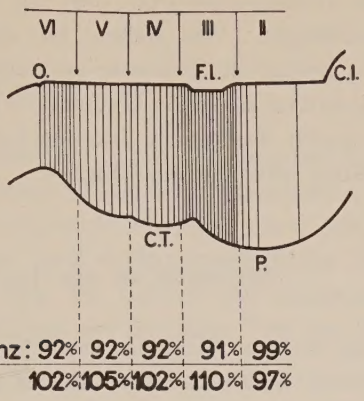
Coffeinversuche

Schematischer Sagittalschnitt durch den unteren Hirnstamm. Lage der an 37 Kaninchen angelegten 53 halbseitigen Hirnstamm-querschnitte.
C.I. = Colliculi inferiores; P = Pons; C.T. = Corpus trapezoides; F.l. = Foveolae laterales; O = Obex.

Mittelwerte der durch das Coffein verursachten Atmungsaenderungen sind in Abbildung 1 für jeden Sektor angegeben. Man erkennt daraus, dass Coffein auf den Schnittebenen der Sektoren I, II, IV und V wirkungslos ist, während es in Sektor VI und vor allem in III eine deutliche Zunahme der Atmungsfrequenz und eine Abnahme der Atemzugstiefe bewirkt, d.h. Effekte, die man als typische Atmungswirkungen des Coffeins kennt.

Nach den an Hand von ABB. 1 dargestellten Ergebnissen ist erwiesen, dass in Sektor III und sehr wahrscheinlich auch in Sektor VI ein Substrat liegt, von dem aus die Atmungstätigkeit aktiviert werden kann. Wichtig ist nun aber die Frage, ob diese Substrate einen Coffeinangriffspunkt

Abb. 2

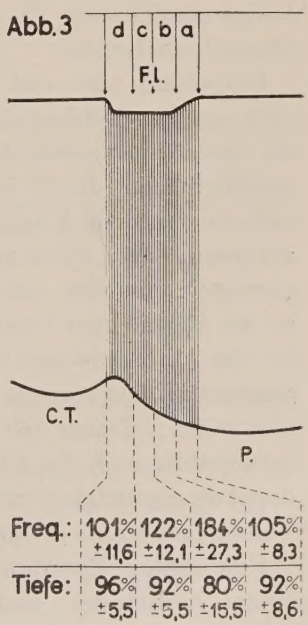


Theobrominversuche

(45 Schnitte an insgesamt 29 Kaninchen). Legende im übrigen wie für ABB. 1.

darstellen oder ob sie eventuell nur in unspezifischer Weise auf die hohe Salzkonzentration angesprochen haben. Um dies entscheiden zu können, haben wir in einer zweiten Versuchsserie mit Theobromin gearbeitet (siehe Methode). Das Verteilungsbild der Schnittbenen ist in ABB. 2 dargestellt. Um im interessantesten Sektor (III) möglichst gute Vergleichsmöglichkeiten zu haben, wurden in diesem Abschnitt besonders viele Versuche durchgeführt. Man erkennt unschwer, dass das Aufbringen von Theobromin in keinem Falle eine Atmungsveränderung bewirkt hat. Damit aber ist erwiesen, dass in Sektor VI und vor allem in Sektor III Substrate vorhanden sein müssen, von

Abb. 3



Coffeinversuche

Schematischer Sagittalschnitt durch den unteren Pons (Sektor III der ABB. 1 und 2). 33 Schnitte an insgesamt 28 Kaninchen. Angegeben sind die Mittelwerte der erzielten Atmungsaenderungen (± die Streuung „s").

denen aus Coffein in spezifischer Weise Atmungswirkungen hervorbringen kann.

Da wir in unserem Institut seit langem an pontinen Atmungssubstraten interessiert sind, haben wir den Sektor III noch etwas näher zu analysieren versucht dadurch, dass wir eine Unterteilung in Untersektoren vornahmen. Wir haben zu diesem Zwecke in weiteren Versuchen die Dichte der Schnitte im Bereich dieses Sektors vermehrt (siehe Abb. 3), so dass auf jeden Untersektor (*a-d*) 8-9 Versuche entfallen. Dabei zeigte es sich, dass das in Frage stehende Substrat im Untersektor „*b*" am stärksten vertreten sein dürfte.

Besprechung der Ergebnisse

Dass die mit unserer Methode eruierten Substrate wirklich coffeinempfindlich sind, dürfte auf Grund des negativen Ausfalls der entsprechenden Theobrominversuche ausser Zweifel sein. Sie stellen demnach Angriffspunkte für Coffein dar. Ob es die einzigen des untersuchten Bereiches sind, kann zwar nicht sicher gesagt werden, ist aber doch sehr wahrscheinlich. An allfälligen anderen, in gleichem Masse oder gar stärker coffeinempfindlichen Substraten könnten uns bei unserer Art der Untersuchung nur solche entgangen sein, die im Vergleich zu den beiden obengenannten eine ungleich viel stärkere Längenausdehnung in cranio-caudaler Richtung, bei nur geringem Querschnitt hätten.

Interessant wäre nun zu wissen, inwiefern die bekannte Atmungswirkung des Coffeins über die gefundenen Substrate zustandekommt. Ist die Atmungsstimulation, die man beispielsweise bei Narkosezwischenfällen durch intravenöse Verabreichung von Coffein (oder anderen zentralen Erregungsmitteln) zu erhalten sucht, darauf zurückzuführen, dass Coffein gerade an diesen Stellen angreift? Wir möchten vermuten, dass dies zutrifft. Diese Ansicht passt jedenfalls sehr gut zu der allgemeinen Vorstellung, wonach die elementaren Mechanismen für die Automatie und für die wichtigsten Steuerungen der Atmungstätigkeit in dem von uns abgesuchten Bereich des Hirnstammes gelegen sein sollen. Damit soll allerdings nicht in Abrede gestellt sein, dass gelegentlich auch von höher gelegenen Stellen eine starke Beeinflussung der Atmungstätigkeit möglich ist. Doch dürfte diese Möglichkeit in Vollnarkose kaum in Betracht kommen.

Eine genaue Zuordnung der beiden coffeinempfindlichen Stellen zu einem bestimmten anatomischen Substrat, etwa einer bestimmten

Gruppe von Nervenzellen, kann zur Zeit noch nicht vorgenommen werden. Es scheint uns jedoch interessant darauf hinzuweisen, dass gerade in den beiden in Frage stehenden Sektoren VI und III von WYSS und Mitarbeitern (1, 12) einerseits und von BUCHER (3) andererseits wichtige vagale Atmungssubstrate lokalisiert wurden.

ZUSAMMENFASSUNG

An Kaninchen wurde versucht, durch lokalisiertes Auftragen von Coffein auf genau umschriebenen Stellen des Hirnstammes, die Angriffspunkte für die atmungsstimulierende Wirkung des Coffeins ausfindig zu machen. Dabei konnten zwei coffeinempfindliche Substrate gefunden werden. Das eine liegt im Bereich des Calamus scriptorius und das andere, wohl wichtigere, im caudalen Teil des Pons.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. K. BUCHER ausgeführt.

SUMMARY

By local application of caffeine on precisely circumscribed locations in the brain stem of rabbits, we tried to find the exact point of action for the respiratory stimulating effect of caffeine. Two caffeine sensitive substrates were found — one in the region of the calamus scriptorius and the other, probably more important one, in the caudal part of the pons.

RÉSUMÉ

Sur le lapin, on a essayé de préciser l'endroit où s'exerçait l'action stimulante de la caféine sur la respiration. Pour ce faire, on a appliqué la caféine directement sur des portions bien définies du tronc cérébral. On a ainsi été à même de mettre en évidence deux substrats sensibles. L'un se situe au niveau du calamus scriptorius, et l'autre, probablement plus important, dans la partie caudale du pont de Varole.

LITERATURVERZEICHNIS

1. — ANDEREGGEN, P., OBERHOLZER, R. J. H., WYSS, O. A. M. *Helv. Physiol. Acta*, 1946, *4*, 213.
2. — BONNEFIN, F. W., Recherches expérimentales sur l'action convulsivante des principaux poisons. Thèse de Paris, 1851.
3. — BUCHER, K. *Pflügers Archiv.*, 1942, *245*, 537.
4. — COMROE, J. H. jr. *Am. J. Physiol.*, 1943, *139*, 490.

5. — Fischlewitz, J. und Bucher, K. *Experientia*, 1948, *4*, 196; *Helv. Physiol. Acta*, 1948, *6*, 455.
6. — Guinard, L. und Dumarest, F. *Arch. inter. Pharmacodyn.*, 1899, *6*, 283.
7. — Hahn, F. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1949, *208*, 29.
8. — Kohlhoff, H. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1928, *136*, 331.
9. — Marckwald, M. *Z. Biol.*, 1887, *23*, 149.
10. — Meier, R. und Bucher, K. *Pflügers Archiv.*, 1941, *245*, 412.
11. — Meier, R. und Bucher, K. *Helv. Physiol. Acta*, 1944, *2*, 35.
12. — Oberholzer, R. J. H., Andereggen, Ph., Wyss, A. O. M. *Helv. Physiol. Acta*, 1946, *4*, 495.
13. — Schoen, R. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1926, *113*, 257.
14. — Ten Caté, J. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1945, *70*, 293.
15. — Winniwarter, Fr. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1937, *185*, 95.